

사람 방광암 세포주에서 IFN- γ 에 의한 ICAM-1 및 HLA-DR의 유도 발현

연세대학교 의과대학 미생물학교실¹, 비뇨기과학교실²

김연향¹ · 박동수² · 박전한¹ · 이정림¹ · 신의철* · 이종현* · 이진무² · 김세종¹

=Abstract=

Expression of ICAM-1 and HLA-DR Induced by IFN- γ in Human Bladder Cancer Cell Lines

Yeon Hyang Kim¹, Dong Soo Park², Jeon Han Park¹, Jung Lim Lee¹, Eu Chul Shin*
Jong Hyeon Lee*, Jin Moo Lee² and Se Jong Kim¹

Department of Microbiology¹, Department of Urology², Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Four human bladder cancer cell lines, RT4(GI, well differentiated, superficial TCC), T24(GII, epidermoid, superficial TCC), J82(GIII, anaplastic, invasive TCC), TCCSUP(GIV, distant metastatic TCC) and one normal fetus bladder cell line, FHs738B1, were analyzed for their ability to express the ICAM-1 and HLA-DR molecules at the transcriptional level as well as on their cell surfaces before and after treatment with 200U/ml of IFN- γ . All cell lines except RT4, even though the intensity of ICAM-1 expression was enormously stronger in normal fetus bladder cell line comparing to T24, J82 and TCCSUP, displayed constitutive expression of ICAM-1 before and after IFN- γ treatment. RT4 cells did not express ICAM-1 regardless of IFN- γ treatment. Before IFN- γ treatment, HLA-DR was not constitutively expressed in all cell lines. After 200U/ml of IFN- γ treatment, RT4 derived from patient with benign clinical course and J82 derived from patient without distant metastasis displayed elevated levels of HLA-DR expression which reached to the almost maximum level after IFN- γ treatment for 48hr. The expression rate and the degree of HLA-DR expression in these cell lines increased in a time dependent manner but HLA-DR expression was not induced in the T24 and TCCSUP cell lines even at a higher concentration (1000U/ml) of IFN- γ .

The molecular mechanism underlying such a differential expression was investigated and the HLA-DR gene regulation was studied at the transcriptional level. In RT4 and J82 cell lines, treatment with IFN- γ led to the steady-state mRNA augmentation of the HLA-DR gene. The HLA-DR A mRNA augmentation was similar in both cell lines, whereas HLA-DR B mRNA augmentation was higher in RT4 than in J82. These results established that the human bladder cancer cell lines studied here showed a differential susceptibility to IFN- γ on the modulation of HLA-DR molecules, and this modulation is transcriptionally regulated.

본 연구는 1994년도 한국과학재단 핵심과제 연구비(941-0700-013-2)와 1993년도 연세대학교 의과대학 학생 연구비의 지원에 의해 이루어졌음.

Reprint request to : Se Jong Kim, M.D., Ph.D., Department of Microbiology, Yonsei University College of Medicine, CPO Box 8044, Seoul, Korea, 120-752.

By analyzing above findings along with clinical characteristics of patients from whom the cell lines were established, it might be also suggested that the expression of ICAM-1 seems to be associated with cell differentiation and the inducibility of HLA-DR expression by IFN- γ seems to be associated with clinical course and/or metastatic potential of bladder cancer.

Key Words : Bladder cancer cell lines, ICAM-1, HLA-DR, IFN- γ .

서 론

종양은 다양한 생물학적 또는 생화학적 변화로 여러 세포표면분자의 발현변화를 동반하게 된다¹⁾. 이러한 세포표면분자발현의 다양한 변화는 종양세포 간의 상호관계 및 종양세포의 조직 침윤성, 그리고 전이능력과 관련이 있어 종양의 진행 및 예후에 영향이 있을 것으로 생각된다²⁾.

세포표면분자로서 ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1)은 정상조직에서는 주로 혈관내피세포, 림프절 배중심, 조직대식세포 및 유착성 단핵세포에서 발현되며 종양조직에 침윤된 백혈구와 접촉하는 이종형 세포를 받아들이고 종양세포들간의 유착을 감소시켜 종양세포들의 해리를 촉진시키기도 한다³⁾.

세포표면에 발현되는 HLA(human leukocyte antigen)분자는 T 림프구에 항원펩타이드를 제공하여 면역반응에 중추 역할을 한다. 그 중 HLA class II 분자는 항원전달 세포기능을 가진 대식세포 및 B 림프구 등과 같은 제한된 세포에서 발현되며 종양세포와의 상호작용에 관여하고, HLA class I 분자는 종양세포에서 종양 전이능력과는 서로 반비례 관계로 발현되기도 한다^{4,5)}. HLA 분자 발현에 있어 방광암의 경우도 정상세포와는 다른 양상을 보이는 데 정상방광세포의 경우, 일반적으로 HLA class I 분자가 발현되고, HLA class II 분자는 발현되지 않는 반면, 방광암세포의 경우 HLA class II 분자가 발현될 수도 있다는 것이 알려져 있다⁶⁾.

종양세포에서 ICAM-1과 HLA class II 분자의 발현은 IFN- γ 와 같은 싸이토카인에 의해 조절되며, IFN- γ 는 종양세포에 직접적으로 작용하여 성장을 억제하므로 IFN- γ 에 대한 종양세포의 반응 정도는 종양세포가 숙주면역계와 상호작용하거나 종양의 진행능력을 결정하는 주요 지표가 된다^{7,8,9)}. 이와 관련하여 종양의 악성도에 따라 IFN- γ 에 의한 HLA class II 분자의 발현양상이 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다^{10,11,12)}.

서로 다른 세포분화도와 조직 침윤성 또는 악성도를 나타내는 종양세포들에서 ICAM-1분자와 HLA-

DR 분자의 발현이 IFN- γ 에 의해 조절되는 양상에 대한 연구는 종양의 전이과정과 그 조절기전을 이해하는 데 기초가 될 것이며, 더 나아가 각종 암의 성상을 이해하고 암의 예후를 판정하는 데 도움을 줄 것이다. 본 연구에서는 방광암 세포에서 IFN- γ 에 의해 ICAM-1 및 HLA-DR 분자가 유도발현되는지를 알아보고 이 분자들의 발현양상이 종양세포의 분화도 또는 악성도와 관계가 있는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 종양 세포주 및 세포 배양

방광암 세포주로는 사람에게 유래된 방광암 세포주중 조직학적 분화도와 조직침윤성이 다른 RT4¹³⁾(ATCC HTB2), T24¹⁴⁾(ATCC HTB4), J82¹⁵⁾(ATCC HTB1)와 TCCSUP¹⁶⁾(ATCC HTB5) 세포주를 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)으로부터 구입하여 사용하였다(표 1). RT4와 T24 세포주는 10% 우태아혈청(fetal bovine serum ; FBS, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)이 첨가된 McCoy's 5a배지(Gibco BRL)에서 배양하였고, J82와 TCCSUP 세포주는 10% 우태아혈청이 첨가된 Eagle's minimum essential medium (EMEM ; Gibco BRL)에서 배양하였다.

정상 세포주로는 정상 사람 태아 방광세포주인 FHs738B1(ATCC HTB 160)을 사용하였고, Dulbecco's modified essential medium(DMEM ; Gibco BRL)에 10% 우태아 혈청을 첨가하여 배양하였다.

각 배지에 최종농도 10mM의 N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethane sulfonic acid(HEPES, Hazelton, Lenexa, KS, USA)와 100U/ml의 penicillin, 100 μ g/ml의 streptomycin을 첨가하여 사용하였다.

2. Flow cytometry를 이용한 ICAM-1 및 HLA-DR 분자의 발현 측정

단층을 이룬 정상 사람의 태아방광세포주 또는 방광암세포주를 200U/ml의 IFN- γ (Genzyme Co., Cambridge, MA, USA)를 첨가한 배지에서 24, 48,

표 1. 실험에 사용한 정상 및 방광암 세포주의 종류와 특성

세포주	유래종양의 조직적인 분화도	세포병리	유래종양의 임상특성
FHs738B1 RT4	Normal human fetus bladder GI	Well-differentiated transitional cells, possible papilloma	Recurrent papillary tumor
T24	GIII	Epidermoid transitional cell carcinoma	Longstanding multiple papillomatosis
J82	GIII	Anaplastic carcinoma cells Consistent with primary bladder cancer	Stage pT3a
TCCSUP	GIV	Carcinoma consistent with high grade transitional carcinoma	Distant metastasis

72시간 동안 배양하였고, 대조세포군은 IFN- γ 가 첨가되지 않은 배지만으로 배양하였다. 배양세포를 0.25% trypsin/0.1% ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 용액(Halzeton, Lenexa, KS, USA)으로 떼어내어 인산완충용액으로 세척하였고, ICAM-1에 대한 단클론 항체(mouse IgG1) 84H10¹⁷⁾ 또는 HLA-DR 분자에 대한 단클론 항체(mouse IgG2b) B8.12.2¹⁸⁾로 각각 4°C에서 30분간 반응시킨 후, 인산완충용액으로 세척하였다. 이어 fluorescein isothiocyanate(FITC)가 부착된 goat anti-mouse IgG를 첨가하여 빛을 차단시킨 상태로 4°C에서 30분간 반응시키고, 인산완충용액으로 세척한 뒤, 200 \times 에서 10분간 원심분리하였다. 침전된 세포는 1ml의 인산완충용액으로 부유시켜 FACStar(Becton Dickinson, Mountainview, CA, USA)를 이용하여 세포표면 ICAM-1 또는 HLA-DR분자 발현 양상을 측정·분석하였다.

3. RNA분리

방광암세포주를 IFN- γ 처리전 및 48시간 처리후, guanidine isothiocyanate(GITC) 방법¹⁹⁾을 이용하여 세포내의 총 RNA를 얻었다. 세포를 인산완충용액으로 세척한 후, 10⁷ 세포당 1ml의 GITC용액(4M GITC, 25mM sodium citrate, pH 7.0, 0.1M 2-mercaptoethanol, 0.5% sarcosyl)을 넣고, 세포를 21개의 주사 바늘에 10회 통과시켜 파괴시켰다. 파괴된 세포에 1/10 부피의 2M sodium acetate pH 0, 동일부피의 phenol, 그리고 2/10 부피의 chloroform과 혼합시킨 뒤, 4°C에서 15분간 방치하여 4°C에서 12,000 \times 로 20분간 원심분리하였다. 상층액을 취하여 phenol/chloroform에 의한 추출을 반복하여 RNA를 정제하였고, 에탄올로 침전시키고 TE에 녹여 RNA를 분리하였다. 분리된 RNA는 500ng/ml의 ethidium bromide가 포함된 0.7% agarose gel에서

확인하였고, 260nm에서의 흡광도를 분광측정기로 측정하여 그 양과 순도를 결정하였다.

4. Northern hybridization

20 μ g의 세포내 총 RNA를 sample buffer [50% formamide, 17.5% formaldehyde, 20mM 3-(N-morpholino) propanesulfonic acid(MOPS)]와 섞어 55°C에서 15분간 가열하여 변성시켰다. 변성시킨 RNA를 loading buffer(1mM EDTA pH 8.0, 0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol, 50% glycerol)와 섞어 5.4% formaldehyde가 포함된 1% denaturing agarose gel에서 5 volts/cm로 4시간동안 전기 영동한 후, gel을 10 \times SSPE에서 45분간 방치하여 formaldehyde를 제거하였다. 이어 gel상의 RNA를 nitrocellulose membrane (Bios Co., New Haven, CT, USA)으로 옮겼고, 옮겨진 RNA는 membrane상에서 UV cross linker(Spectronics Co., Westbury, NY, USA)로 고정하였다. Membrane을 prehybridization 용액[(5 \times SSPE, 5 \times Denhardt's, solution, (0.1% BSA, 0.1% poly vinylpyrrolidone, 0.1% ficoll), 50% formamide, 50 μ g/ml herring sperm DNA)]에 넣고, 42°C에서 6시간 이상 반응시켰다.

이어 prehybridization용액을 제거하고, ³²P로 표지한 probe DNA가 포함된 hybridization용액(5 \times , SSPE, 5 \times Denhardt's Solution, 50% formamide, 10% Dextran sulfate, 50 μ g/ml herring sperm DNA)을 넣은 후 42°C에서 18시간이상 반응시켰다. HLA-DR 유전자의 전사율을 조사하기 위한 probe DNA로는 HLA-DR α^{20} 와 HLA-DR β^{21} chain specific cDNA를 사용하였다.

Probe DNA의 방사선 표지로는 random primer labelling 방법을 이용하여 [α -³²P]dCTP(3,000 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA

USA)로 표지하고, 유리 [α - 32 P]dCTP는 Sephadex G-25 column chromatography 방법으로 제거하였다. Hybridization 후, nitrocellulose membrane은 1X SSPE, 0.5% SDS 용액으로 65°C에서 15분간 2회 세척하였고, 0.2X SSPE, 0.5% SDS의 용액과 1X SSPE, 0.5% SDS의 용액으로 1회 세척하여 말린 후, Super HR-G X-ray film(Fuji Photo Film Co., Japan)에 -70°C에서 수시간에서 수일간 노출시키는 자가방사기록법(autoradiography)을 행한 후 현상하였다²²⁾.

결 과

1. 방광암 세포에서 IFN- γ 에 의한 ICAM-1 분자 유도발현

분화도와 악성도가 다른 방광암세포주들에서 IFN- γ 에 의한 ICAM-1의 발현변화양상을 알아보기 위해 아무런 자극을 하지 않은 상태와 시간별로 IFN- γ 로 처리하여 각각 ICAM-1 특이 단클론항체를 사용하여 간접면역광법으로 염색한 후, FACS로

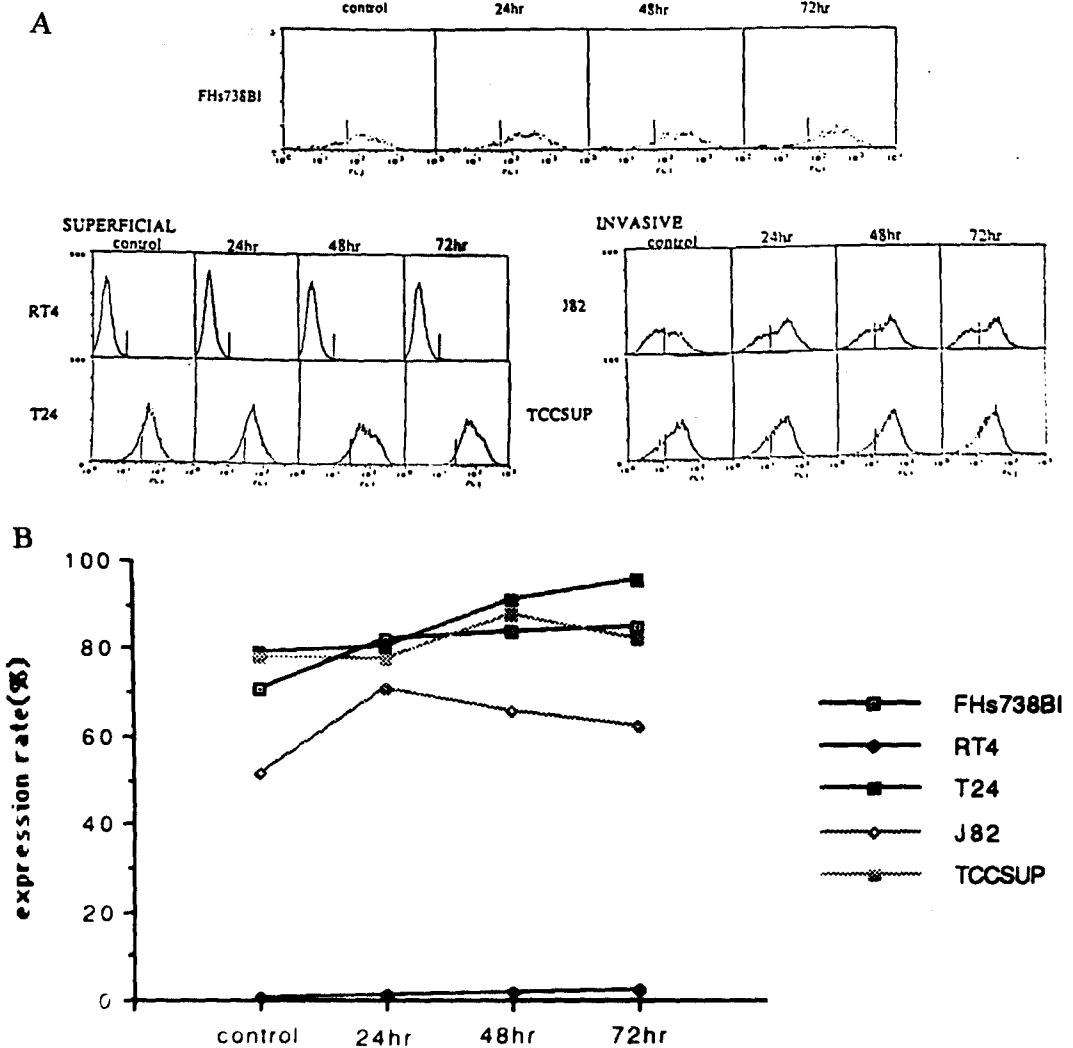


Figure 1. Effect of IFN- γ on the expression of ICAM-1 in bladder cancer cell lines. The cells were incubated with 200U/ml of IFN- γ for 24, 48 and 72hr. Control cells were incubated without IFN- γ . The expression of ICAM-1 was analyzed with relevant mAb and flow cytometry. A) ICAM-1 expression on each cell line was analyzed by FACS histograms plotting fluorescence intensity vs cell number. B) Plot was shown as the expression rate of ICAM-1 in relation to the IFN- γ treated times in the same cells.

분석하였다.

본 실험에 사용한 방광암세포주들 중 RT4 세포를 제외한 방광암세포주에서 IFN- γ 처리전에 ICAM-1이 모두 발현되었다. 즉, T24, J82 및 TCCSUP에서 각각 79.2%, 51.3% 및 77.7%의 ICAM-1의 발현율을 나타냈다. RT4세포주에서 ICAM-1의 발현은 IFN- γ 처리후에도 유도되지 않았다. IFN- γ 처리전에 ICAM-1이 이미 발현되어 있던 세포주들인 T24, J82, TCCSUP에서는 IFN- γ 처리에 의한 ICAM-1 발현율은 약간 증가하는 경향을 보였으나(Fig. 1), 발현강도에는 큰 변화가 없었다(Fig. 2). 정상 사람의 태아 방광세포주인 FHs738B1에서는 IFN- γ 의 처리전과 후 모두에서 ICAM-1 분자가 발현되었으며(Fig. 1), 그 발현 강도는 방광암세포주에 비해 높게 나타났다(Fig. 2).

2. 방광암 세포에서 IFN- γ 에 의한 HLA-DR분자 유도발현

분화도와 악성도가 다른 방광암 세포주들에서 IFN- γ 에 의한 HLA-DR의 유도발현 여부를 알아보기 위해 아무런 자극을 하지 않은 상태와 시간별로 IFN- γ 로 처리하여 각각 HLA-DR 특이 단클론항체를 사용하여 간접면역형광법으로 염색한 후, FACS로 분석하였다.

본 실험에서 사용한 모든 세포주에서 IFN- γ 처리전에는 HLA-DR 분자가 발현되지 않았다. IFN- γ 처리후에는 RT4와 J82 세포에서 처리시간이 증가함에 따라 HLA-DR 분자 발현이 증가되었다. 즉,

RT4 세포에서는 24, 48 또는 72시간 동안 IFN- γ 처리한 경우, 각각 37%, 80.7% 및 83.6%로 HLA-DR 발현율이 증가하였고, J82 세포주에서는 각각 26%, 42.1% 및 48.3%로 증가하였다. 두 세포주에서 HLA-DR 분자의 발현증가율은 IFN- γ 처리 후 48시간에 거의 최대치에 이르며, J82 세포에서 보다는 RT4 세포주에서의 발현율이 더욱 높았으며(Fig. 3), 발현강도도 강하였다(Fig. 4). T24와 TCCSUP 세포주의 경우, IFN- γ 처리에 의해 HLA-DR 발현이 유도되지 않았고, IFN- γ 처리시간과 농도의 증가에 의해서도 유도되지 않았다. 정상 사람의 태아 방광세포주인 FHs738B1에서도 IFN- γ 처리 유무에 상관없이 HLA-DR 분자발현이 유도되지 않았다.

3. HLA-DR mRNA의 발현

각 세포주에서 IFN- γ 자극에 의한 HLA-DR 발현 정도의 차이가 유전자 전사량의 차이에 의한 것인지를 알아보려고 Northern hybridization을 시행하였다. IFN- γ 처리전에는 네 가지 방광암세포주 모두에서 HLA-DR 유전자의 mRNA가 발현되지 않았으며, IFN- γ 처리후에는 RT4와 J82의 두 세포주에서 mRNA가 발현되었다. HLA-DRA 유전자의 경우, RT4와 J82 세포주에서 같은 정도의 전사량이 관찰되었고, HLA-DRB 유전자의 경우, J82에 비해 RT4에서 mRNA의 band intensity가 강하였다(Fig. 5).

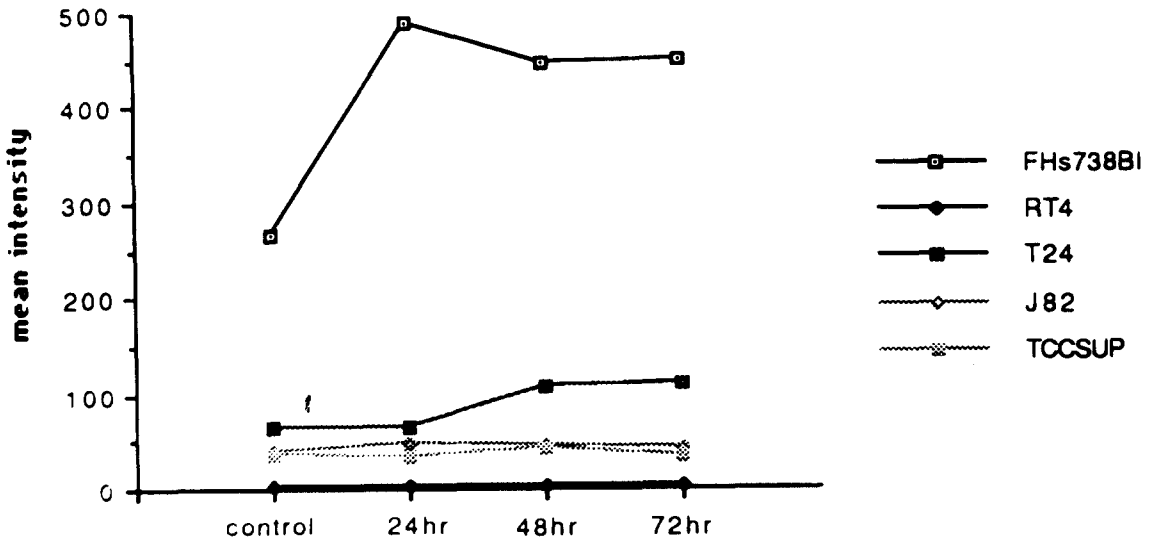


Figure 2. Histogram of mean fluorescence intensity of ICAM-1 by the same experiment shown in Fig. 1. Intensity was plotted as mean linear channel number vs incubation time.

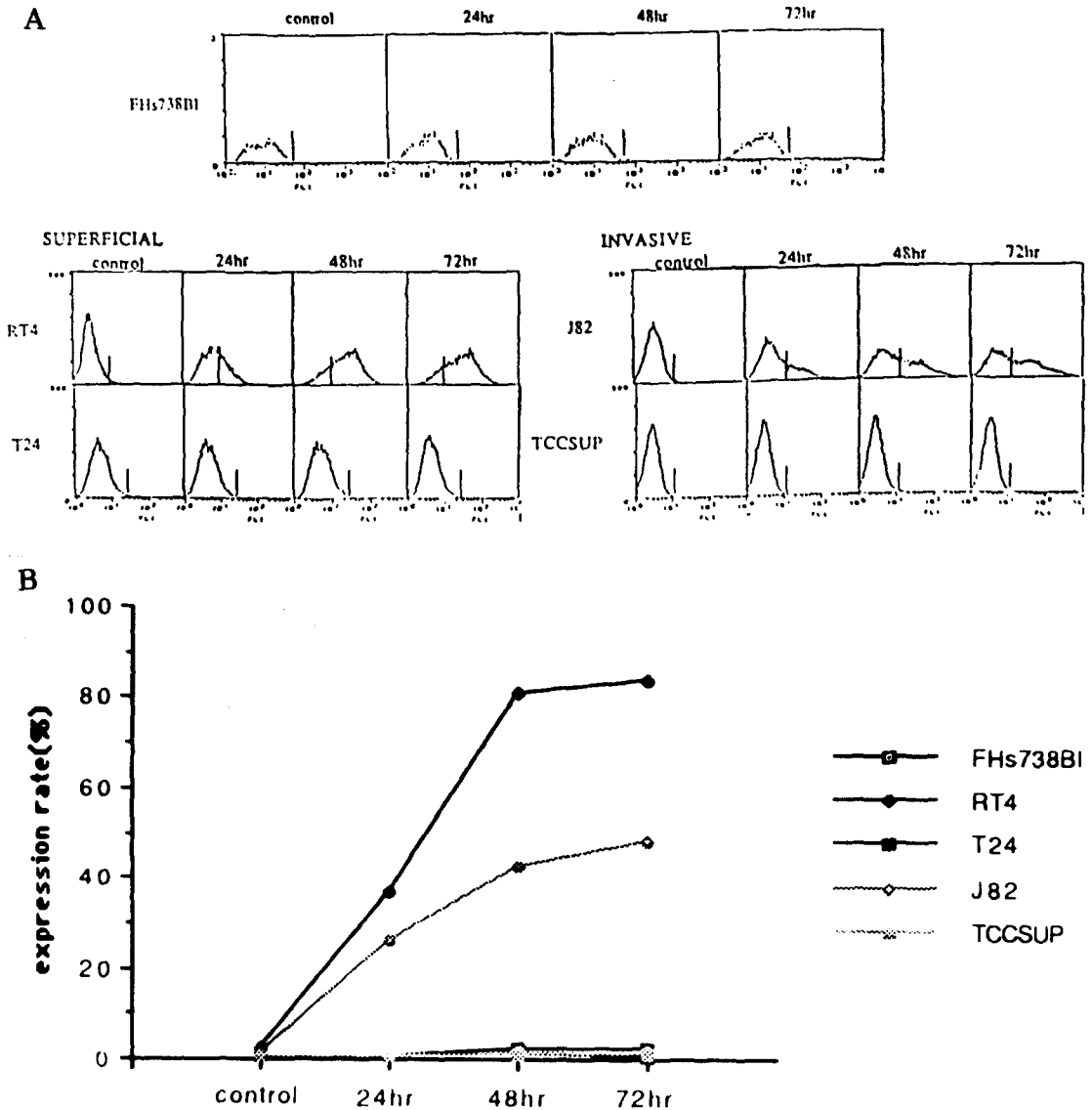


Figure 3. Effect on the expression of HLA-DR by IFN- γ in bladder cancer cell lines. Cells were incubated with 200U/ml of IFN- γ for 24, 48, and 72hr. Control cells were incubated without IFN- γ . The expression of HLA-DR was analyzed with relevant mAb and flow cytometry. A) HLA-DR expression on each cell line was analyzed by FACS histograms plotting fluorescence intensity vs cell number. B) Plot was shown as the expression rate of HLA-DR in relation to the increase of the IFN- γ treated times in the same cells.

고 찰

본 연구에서는 방광암세포에서 IFN- γ 처리에 의한 세포표면에서의 ICAM-1 및 HLA-DR 분자의 발현변화를 세포면역화학적 및 분자생물학적으로 조사하고 이러한 변화가 방광암의 세포분화도 및 악성도와 관계가 있는지 알아보려고 하였다. 사용된

방광암세포주는 조직학적 분화도를 각각 달리하는 세포주로서 RT4, T24, J82, TCCSUP의 순으로 grade가 높은 특성을 갖는다. RT4와 T24 세포주는 표재성방광암으로, J82와 TCCSUP 세포주는 침윤성방광암으로 분류될 수 있으며, RT4보다 T24가, 그리고 J82보다 TCCSUP가 악성도가 높은 방광암 세포주로 J82세포주는 방광내에 국한되어 있는 양상을 보이는 반면, TCCSUP 세포주는 원격전이

THE EFFECT OF IFN- γ ON HUMAN BLADDER CANCER CELLS

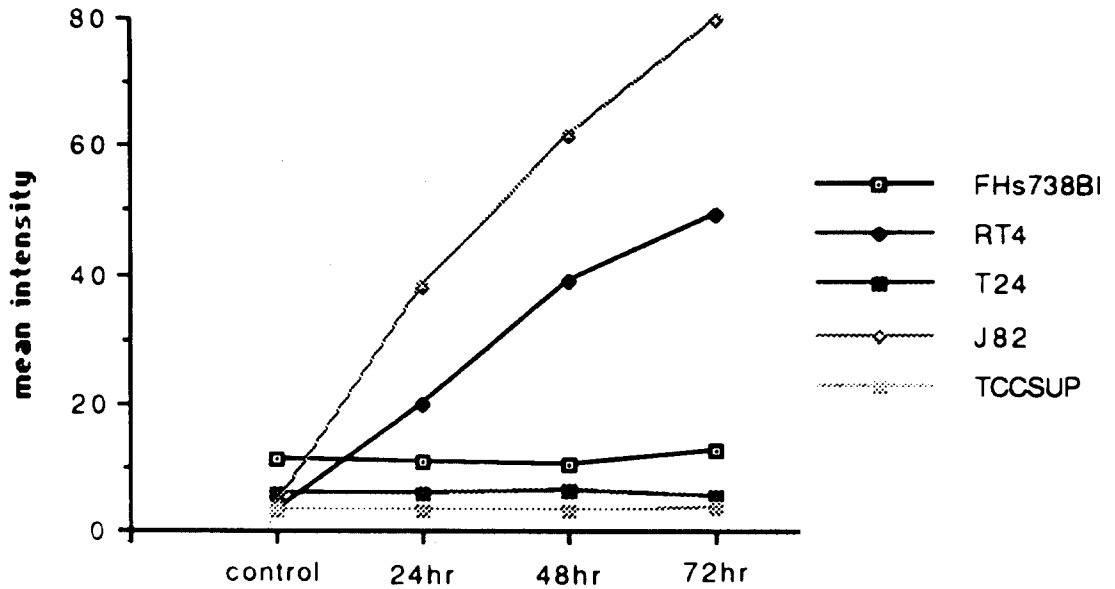


Figure 4. Histogram of mean fluorescence intensity of HLA-DR by the same experiment shown in Fig. 3. Intensity was plotted as mean linear channel number vs incubation time.

Figure 5. Northern blot analysis of HLA-DR mRNA expression in cultured bladder cancer cell lines. Cells were incubated for 24, 48, and 72hr with 200U/ml of IFN- γ (I). The control cells were incubated without IFN- γ (C). Twenty μ g of total cellular RNA was electrophoresed, transferred to NC membrane. The blot was hybridized with 32 P-labeled γ -actin cDNA probe and stripped, then, hybridized with 32 P-labeled HLA-DRA (upper panel) and HLA-DRB specific cDNA probe (middle panel) sequentially. γ -actin cDNA probe was used for the internal control.

는 환자에서 기원되었다^{13, 14, 15, 16}.

본 연구결과에서 고분화 방광암세포주인 RT4 세포주에서는 IFN- γ 자극 전후 모두에서 ICAM-1이 발현되지 않았으나, 저분화 방광암세포주에서는 무자극상태에서도 ICAM-1이 발현되었고, IFN- γ 에 의해 ICAM-1의 발현이 증가되는 경향을 보였다. 이는 악성 흑색종세포주에서 전이력이 강할 경우, IFN- γ 조절에 의한 ICAM-1 발현의 반응정도가 높게 나타난다는 연구와 유사한 결과이다. 그리고, 정상방광세포주에서는 IFN- γ 자극 전후, 모두에서 ICAM-1 발현이 높게 나타났다. 이는 방광암세포주와 정상방광세포에서는 ICAM-1 분자의 발현이 싸이토카인에 의해 조절되기보다는 세포의 분화와 함께 발현되는 기전도 달라지는 것으로 추측된다.

IFN- γ 처리전에는 정상방광세포주와 암세포주 모두에서 HLA-DR의 발현을 관찰할 수 없었다.

IFN- γ 처리후에 고분화 방광암세포주인 RT4와 저분화방광암세포주 중 J82에서 HLA-DR이 발현되었으며, IFN- γ 자극 후 48시간에 거의 최대치에 도달하였다. 악성도와 전이성이 강한 T24와 TCCSUP 세포주는 IFN- γ 처리시간을 증가시키거나, IFN- γ 의 용량을 1000U/ml까지 증가시켜도 HLA-DR 분자가 발현되지 않았다. 표재성방광암세포주로서 RT4와 침윤성방광암세포주로서 J82 세포주는 T24와 TCCSUP에 의해 각기 낮은 악성도와 전이성을 나타내며, RT4에서 J82에 비해 IFN- γ 에 의해 HLA-DR 발현율이 높았다는 사실은 세포 분화도가 좋고, 악성도가 낮은 세포에서 HLA-DR 분자 발현이 더욱 강하게 유도된다는 것을 뜻한다고 할 수 있다. 이러한 사실로부터 방광암의 악성도와 전이성이 낮을수록 IFN- γ 에 의해 발현조절이 가능함을 추측해 볼 수 있다. 조직학적 분화도(tumor grade)와 HLA-DR 분자발현과의 관계에 관한 연구에서 Hawkyard²³⁾ 등의, 조직학적 분화도가 다른 여러 인체 방광암세포주들(RT4, RT11, MGH-U1) 중 분화도가 좋은 세포주에서 IFN- γ 에 의한 HLA-DR 분자발현이 증가된다는 보고는 본 연구결과와 일치된다. 이와는 대조적으로 Ottesen등⁶⁾은 조직학적 분화도를 달리하는 전암성 요로상피세포주와 악성 요로상피세포주들에서 분화도와 상관없이 IFN- γ 의 자극에 의해 HLA-DR 발현이 나타나는 것을 관찰하였다. 그러므로 방광암세포의 조직학적 분화도 자체가 IFN- γ 에 의한 HLA-DR 유도발현이 암세포 전환과 직접적인 관련성이 있다고 할 수는 없으나, 항암면역 요법의 효과 및 예후에 영향을 줄 것으로 생각된다. 방광암세포표면에서 HLA-DR 발현은 BCG에 의해

유도되는 항암효과의 주요기전과 관련있으며, 특히, 표재성방광암에서 BCG의 방광내 주입은 오줌에서 IFN- γ 를 증가시킨다는 사실로부터^{24, 25)}, BCG에 의해 유도된 IFN- γ 가 방광암세포에서 HLA-DR분자 발현을 유도하여 항암면역반응이 유발될 수 있는 가능성을 추측해 볼 수 있다.

방광암세포주의 세포표면 HLA-DR 분자 발현이 HLA-DR mRNA 전사량의 차이에 의한 것인지를 알아보기 위해 Northern hybridization을 시행한 결과, 세포표면에서 HLA-DR이 발현되었던 RT4와 J82 세포주에서, IFN- γ 처리에 의해 HLA-DR mRNA의 발현이 나타나 세포표면에서의 발현양상과 일치됨을 보였다. 두 세포주에서 HLA-DRA 유전자의 mRNA는 유사한 정도로 발현되나, HLA-DRB 유전자의 mRNA는 차이를 보여, 세포간 HLA-DR 분자발현의 차이는 주로 HLA-DR β 사슬 전사량의 차이에 의한 것으로 추측된다. 세포표면에서 HLA-DR 발현을 볼 수 없었던 T24와 TCCSUP 세포주에서는 HLA-DR mRNA가 발현되지 않았으며, 이는 유전자상에서 그 전사가 억제되거나, 전사를 유도하는 중간과정에서 억제되는 등의 조절과정에 의한 것으로 추측할 수 있겠다.

방광암세포에서 ICAM-1의 발현은 세포분화 단계에 따라 발현여부가 다르나, HLA-DR 분자는 악성도가 낮은 방광암세포주에서 IFN- γ 에 의한 유도 발현이 높게 나타났다. 이상의 결과로 방광암세포에서 ICAM-1의 발현은 악성도와 직접연관을 지을 수 없으나 발현의 작동 및 중단기전을 규명함으로써 종양세포의 분화가능성을 판정할 수 있을 것으로 생각되고, HLA-DR 분자 유도발현 정도는 방광암의 진행정도를 판단하는 기준으로 이용될 수 있으리라 생각한다.

참고문헌

1. Fidler IJ: Critical factors in the biology of human cancer metastasis: Twenty-eight G.H.A. Clows Memorial Award Lecture. *Cancer Res* 50: 6130, 1990.
2. Zouboulis CC, Shroder K, Garbe C, Krasagakis K, Kruger S, Orfanos CE: Cytostatic and cytotoxic effects on recombinant tumor necrosis factor- α on sensitive human melanoma cells in vitro may result in selection of cells with enhanced markers of malignancy. *J Invest Dermatol* 95: 223s, 1990.
3. Johnson JP, Stade BG, Holzmann B, Schwable

THE EFFECT OF IFN- γ ON HUMAN BLADDER CANCER CELLS

- W, Riethmuller G: De novo expression of intercellular-adhesion molecule 1 in melanoma correlates with increased risk of metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 641, 1989.
4. Prober JS, Collins T, Gimbrone Jr MA, Cotram RS, Girilin JD, Fiers W, Clayberger, C, Krensky AM, Burakoff SJ, Reiss CS: Lymphocytes recognize human vascular endothelial and dermal fibroblast Ia antigens induced by recombinant immune interferon. *Nature* 305: 726, 1983.
 5. Pflizenmaier K, Bartch H, Scheurich P, Seleger B, Ucer U, Vehmeyer K, Nagel GA: Differential γ -interferon response of human colon carcinoma cells: inhibition of proliferation and modulation of immunogenicity as independent effects of γ -interferon on tumor cell growth. *Cancer Res* 45: 3503, 1985.
 6. Ottesen SS, Ahrenkiel V, Kieler J: Recombinant human interferon gamma exerts an antiproliferative effect and modulates the expression of human leukocyte antigens ABC and DR in human urothelial cell lines. *Cancer Immunol Immunother* 31: 93, 1990.
 7. Trinchieri G, Perussia B: Immune interferon: a pleiotropic lymphokine with multiple effects. *Immunol Today* 6: 131, 1985.
 8. Fleischman Jr WR: Potentiation of the direct anticellular activity of mouse interferons: mutual synergism and interferon concentration dependence. *Cancer Res* 42: 869, 1982.
 9. Bashan TY, Merigan TC: Recombinant interferon gamma increases HLA-DR synthesis and expression. *J Immunol* 130: 1492, 1983.
 10. Darr AS, Fuggle SV, Fabre JW, Ting A, Morris PJ: The detailed distribution of MHC class II antigens in normal human organs. *Transplantation* 38: 293, 1984.
 11. Gasti G, Marth C, Leiter E, Gattringer C, Mayer I, Daxenbichler G, Flener R, Huber C: Effects of human recombinant γ -interferon and α -interferon on human breast cancer cell lines: dissociation of antiproliferative activity and induction of HLA-DR antigen expression. *Cancer Res* 45: 2975, 1985.
 12. Schwartz R, Momburg F, Moldenhauer G, Dorken B, Schirrmacher V: Induction of HLA class II antigen expression on human carcinoma cell lines by IFN-gamma. *Int J Cancer* 35: 245, 1985.
 13. Rigby C, Franks L: A human tissue culture cell line from a transitional cell tumour of the urinary bladder: growth, chromosome pattern and ultrastructure. *Br J Cancer* 24: 746, 1970.
 14. Bubenik J, Baresova M, Viklicky V, Jakoubkova J, Sainerova H, Donner J: Established cell line of urinary bladder carcinoma (T24) containing tumour-specific antigen. *Int J Cancer* 11: 765, 1973.
 15. O'Toole C, Price Z, Ohnuki Y, Unsgaard B: Ultrastructure, karyology and immunology of a cell line originated from a human transitional-cell carcinoma. *Br J Cancer* 38: 64, 1990.
 16. Nayak S, O'Toole C, Price Z: A cell line from an anaplastic transitional cell carcinoma of human urinary bladder. *Br J Cancer* 35: 142, 1977.
 17. Makgoba MW, Sanders ME, Ginther LGE, Dustin ML, Spinger TA, Clark EA, Mannoni P, Shaw S: ICAM-1 a ligand for LFA-1-dependent adhesion of B, T and myeloid cells. *Nature* 331: 86, 1988.
 18. Hansen GS, Kubin B, Sorensen SF, Svejgaard A: Importance of HLA-D antigens for the cooperation between human monocytes and T lymphocytes. *Eur J Immunol* 8: 520, 1978.
 19. Chirgwin JM, Przybyla AE, McDonald RJ, Rutter WJ: Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease. *Biochem* 18: 524, 1979.
 20. Gustafsson K, Wiman K, Larhammar D, Rask L, Peterson PA: Signal sequence distinguish class II histocompatibility antigen β chains of different loci. *Scand J Immunol* 19: 91, 1984.
 21. Long EO, Wake CT, Gorski J, Mach B: Complete sequence of an HLA-DR β chain deduced from a cDNA clone and identification of multiple non-allelic DR β -chain genes. *EMBO J* 2: 389, 1983.
 22. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: RNA analysis, *Molecular Cloning* 2, 7.37, 1989 Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, USA.
 23. Hawkyard S, James K, Prescott S, Jackson A, Ritchie A, Smyth J, Chisholm G: The effects of recombinant human interferon-gamma on a panel of human bladder cancer cell lines. *J Urol* 145: 1078, 1991.
 24. Prescott S, James K, Busuttill A, Hargreave T,

Chisholm G, Smyth J: HLA-DR expression by high grade superficial bladder cancer treated by BCG. Br J Urol 63: 264, 1989.

Chisholm G: Radioimmunoassay detection of gamma interferon in the urine after intravesical BCG therapy. J Urol 144: 1248, 1990.

25. Prescott S, James K, Busuttill A, Hargreave T,
